

Evaluación fotoquímica y de actividad antioxidante de los rizomas de tres especies del género *Cyperus*.

Henry Velásquez-Pérez*, Paula Galeano-García*^a

* *Bioprospección de los Productos Naturales Amazónicos, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de la Amazonia, Avenida Circunvalar, Barrio el Porvenir. Florencia, Colombia.*

Recibido 2 de Diciembre de 2011; aceptado 13 de Abril de 2012

Resumen

Las especies del género *Cyperus* son muy abundantes en nuestro medio, son conocidas como malezas en cualquier tipo de cultivo; su reproducción se realiza por medio de los rizomas lo que permite su rápida población. Las especies *Cyperus luzulae*, *Cyperus diffusus* y *Cyperus odoratus*, fueron colectadas en la granja Santo Domingo, sede de la Universidad de la Amazonia, posteriormente se prepararon los extractos metanólicos de los rizomas de cada una de las especies y se desarrolló el análisis fitoquímico preliminar. De igual forma se evaluó el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante mediante metodologías de DPPH, ABTS y FRAP. Los resultados obtenidos nos indican que de las tres especies evaluadas del género *Cyperus* la especie *C. odoratus*, mostró mayor presencia de metabolitos secundarios y mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante. Los metabolitos secundarios encontrados en la *C. odoratus* son: triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, quinonas, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glicósidos cianogénicos y glucósidos cardiotónicos. Además, muestra un contenido de fenoles totales de $426,1 \pm 0,9$ mg ácido gálico/g muestra seca, y la actividad antioxidante, expresada en equivalentes de trolox y ácido ascórbico es de $1552,8 \pm 5,6$ μ mol Trolox/g muestra seca, en ABTS; $780,3 \pm 6,0$ μ mol Trolox/g muestra seca, en DPPH y un valor FRAP de $1766,0 \pm 10,4$ μ mol Ácido ascórbico/g muestra seca. Este tipo de investigaciones permite conocer la actividad biológica de estas especies y promover su uso como fuente de antioxidantes naturales.

Palabras claves: Actividad antioxidante, *Cyperus diffusus*, *Cyperus luzulae*, *Cyperus odoratus*, fitoquímica.

Abstract: *Cyperus* type species are very plentiful in our environment. They are known as weeds in any kind of crop, its reproduction is done by rhizomes which allow its quick population. *Cyperus luzulae*, *Cyperus diffusus* y *Cyperus odoratus* species were collected in Santo Domingo Farm, headquarter of Universidad de la Amazonia, then the rhizomes methanol extracts were prepared from each species and it was developed a phytochemical preliminary analysis. At the same way, it was assessed the total phenolic content and antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP methods. The obtained results indicate us that of the three *Cyperus* type species evaluated, *C. Odoratus* showed more presence of secondary metabolites and a higher content of phenolic compounds and antioxidant activity. The secondary metabolites found in *C. Odoratus* are: triterpenes, sterols, saponins, tannins, quinines, flavonoids, coumarins, alkaloids, cyanogenic glycosides and cardiac glycosides. It also shows a total phenol content of 426.1 ± 0.9 mg Gallic acid/g dry sample, and the antioxidant activity, expressed in trolox and ascorbic acid equivalents is 1552.8 ± 5.6 mmol Trolox/g dry sample, in ABTS 780.3 ± 6.0 mmol Trolox/g dry sample, in DPPH and a FRAP value of 1766.0 ± 10.4 mmol ascorbic acid/g dry sample.

This type of research let to know the biological activity of these species, promoting their use as a natural antioxidant source.

Keywords: Antioxidant Activity, *Cyperus luzulae*, *Cyperus diffusus* y *Cyperus odoratus* Phytochemistry.

Introducción

Los componentes de una planta se subdividen en dos grandes grupos: Los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios o productos naturales. Los primeros (carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) están universalmente distribuidos y participan en la actividad celular de todo ser viviente; mientras que los últimos, comprenden los llamados principios activos, compuestos químicos de estructura relativamente compleja y de distribución más restringida, encontrados en fuentes botánicas. Los metabolitos secundarios no son indispensables en las plantas, no se ha descubierto aún una función metabólica en la cual

ellos intervienen; sin embargo, su aislamiento y conocimiento estructural, da lugar a diseñar reacciones para producir derivados semisintéticos, con utilidad terapéutica. Es entonces de gran importancia, aislarlos y localizarlos en los diferentes extractos y en partes de la planta, para realizar posteriormente, los ensayos biológicos adecuados (Kuklinski C. 2000).

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) y nitrógeno, están involucradas en diversos fenómenos biológicos, como el cáncer, enfermedades cardíacas, arteriosclerosis, enfermedades cerebrales y el envejecimiento prematuro, entre otras, y surgen en estos sistemas después de una prolongada exposición a

oxidantes (Kohen R, & Nyska A.2002). Esta exposición pueden causar la inhibición de enzimas como la superóxido dismutasa, catalasas y peroxidasas, lo que genera efectos letales en las células por la oxidación de lípidos, proteínas, DNA y enzimas; ocasionando reacciones en cadena que promueve la formación de más radicales libres y proporcionalmente aumentan el daño de tejidos (Mesa-Vanegas *et al* 2010).

Los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o interrumpir las reacciones de transformación que causan daños a las mencionadas biomoléculas (Halliwell 1996). En los últimos años, los antioxidantes naturales como la quercetina, -tocoferol y el -caroteno, provenientes de las plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos, en la industria de alimentos, farmacéutica, cosmética y en medicina (Noldin *et al* 2006). La gran diversidad de especies vegetales en Colombia, así como la amplia gama de moléculas orgánicas que presentan y los reportes de interesantes propiedades biológicas, las hacen una de las principales fuentes de productos biológicamente activos (Pezzuto, 1997).

La familia Cyperaceae está distribuida por zonas húmedas del hemisferio norte, con una diversidad de 70 géneros y 4000 especies. Se caracterizan por ser plantas herbáceas, con frecuencia perennes que desarrollan rizomas o estolones, tallos macizos trígono o cilíndricos, hojas estrechas, normalmente con la vaina cerrada y situadas en la base de los tallos (Aizpuru *et al.* 1993, Carretero *et al.* 2004, Devesa 1997). La especie *Cyperus rotundus* resalta por su importancia agrícola, y es conocida como la peor maleza, se encuentra en más países, regiones y localidades del mundo que ninguna otra maleza (Holm *et al.* 1977).

Las especies del género *Cyperus* han despertado gran interés en la investigación científica en cuanto a los estudios de actividad biológica, en los cuales se tienen reportes de estudio químico del aceite esencial de *C. rotundus*, donde aislaron y caracterizaron estructuras de nuevos sesquiterpenos (Mesmin & Wilfried 2001); además el extracto metanólico de *C. rotundus* presenta actividad antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*. En cuanto al estudio fitoquímico demuestra diversidad de flavonoides, cumarinas y taninos (Kilani *et al.* 2010).

En el presente trabajo se muestran los resultados del estudio fitoquímico preliminar y el contenido de compuestos fenólicos y de actividad antioxidante de los extractos metanólicos de los rizomas de *C. luzulae*, *C. diffusus* y *C. odoratus*, evaluados por diferentes metodologías: fenoles totales, DPPH, ABTS y FRAP, con el fin de caracterizar el potencial antioxidante de los extractos metanólicos de los rizomas de estas tres plantas.

Metodología

Reactivos y equipos

El radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), tricloruro de hierro, 2,4,6-tri (2-piridil) triazina (TPTZ), ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), Trolox, fueron comprados a Sigma Aldrich. Cloruro férrico, fosfato ácido de potasio, fosfato mono ácido de potasio, persulfato de potasio, carbonato de sodio, acetato de sodio, ácido acético, fueron obtenidos en Sharlau. Folin-Ciocalteu y ácido ascórbico se obtuvieron de Panreac. Metanol analítico adquirido a Wacol S.A. Metanol comercial, de químicos JM. El agua usada en los experimentos fue USP. Todos los experimentos se realizaron en un espectrofotómetro Mertertek sp-150, además de los siguientes equipos; rotavapor Heidolph Laborata 4000, vortex genie-2, estufa de secado MLW, micropipetas BRAND (10-100 y 100-1000 µl).

Recolección del material vegetal

Las especies *C. luzulae*, *C. diffusus* y *C. odoratus* se colectaron en la granja Santo Domingo-Universidad de la Amazonia, ubicada en la vía Florencia-Morelia bajo las coordenadas (Latitud: 01°36'2,54'', Longitud: 75°38'38''). La identificación taxonómica de las especies la realizó el Ingeniero agroecólogo Edwin Trujillo, según las normas internacionales para el herborizado de plantas (Albert 1982) y depositados en el herbario de la Universidad de la Amazonia (HUAZ).

En el laboratorio de Productos naturales se seleccionaron los rizomas separándolos del tallo y se lavaron con agua corriente. Posteriormente, fueron secados en estufa por tres días a una temperatura de 50 °C. Al cabo de esto los rizomas se molieron y se sometieron a percolación con metanol al 96% por tres días. Luego se removió el solvente a presión reducida en un evaporador rotatorio y se obtuvieron los extractos

metanólicos con rendimiento para *C. luzulae* de 3,1%, *C. diffusus* 2,8%, *C. odoratus* 4,8 %. Respectivamente.

Evaluación Fitoquímica

La presencia de metabolitos secundarios se realizó mediante un análisis fitoquímico preliminar con pruebas de coloración y de precipitación en tubos de ensayo siguiendo la metodología (Sanabria 1983). Se emplearon los siguientes reactivos: Anhídrido acético para triterpenos; Prueba de Liberman-Burchard para esteroides; Reactivo de Rosenthaler y agua caliente para saponinas; Reactivo de Shinoda, vapores de amoníaco y Pew's, para flavonoides; Solución alcalina para cumarinas; Cloruro férrico al 10% para taninos; Hidróxido de sodio al 5% para quinonas; Reactivo de Grignard para glicósidos cianogénicos; Reactivo de Baljet para glucósidos cardiotónicos, Dragendorff y Meyer para alcaloides.

Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Se tomó 60 µL de muestra a evaluar, 415 µL de agua USP, 125 µL reactivo de Folin-Ciocalteu y 400 µL carbonato de sodio al 7,5 %. Se dejó reaccionar por 60 minutos en oscuridad a temperatura ambiente, posteriormente se leyó la absorbancia a 760 nm. Los resultados se expresaron como mg de ácido mg ácido gálico/g muestra seca, en base a una curva patrón de ácido gálico

Evaluación de la actividad antioxidante Ensayo de decoloración del radical 1-1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)

Se empleó el método de Brand-Williams et al 1995. Este proceso se llevó a cabo preparando una solución madre metanólica de DPPH (20 mg/L). Se tomó 10µL de cada uno de los extractos metanólicos de las especies del genero *Cyperus* y 990 µL de la solución madre de DPPH. Se dejó reaccionar en la oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. Los resultados se expresaron como valores TEAC (µmol Trolox/g muestra seca) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX®.

Ensayo de decoloración con el radical catiónico ABTS⁺

Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS⁺, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o

de electrones (Re R, et al 1999). En la evaluación se utilizaron 10 µL de cada uno de los extractos metanólicos de la tres especies de *Cyperus* y 990 µL de la solución del radical ABTS⁺. A los 30 minutos de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó el cambio en la absorbancia respecto a la referencia del reactivo, a una longitud de onda de 734 nm. (Pannala et al 2001). Los resultados se expresaron como valores TEAC (µmol Trolox/g de muestra seca) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX®.

Ensayo de la capacidad reductora FRAP (ferric reducing/antioxidant power).

El fundamento de este método está basado en evaluar la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe³⁺) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina, (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe²⁺) (Benzie and Strain,1996). El ensayo se llevó a cabo en un buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6), que contenía TPTZ y FeCl₃. Se utilizó como muestra 900 µL de solución FRAP, 50 µL buffer, y 50 µL muestra a evaluar, luego de 60 minutos de reacción y en la oscuridad a temperatura ambiente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 590 nm. Los valores FRAP se expresaron en base a una curva de referencia de ácido ascórbico como patrón primario; la actividad de cada muestra se expresó como valor FRAP (µmol ácido ascórbico/g muestra seca).

Resultados y Discusión

los metabolitos presentes en las tres especies de género *Cyperus*. La especie *C. odoratus* presentó: Triterpenoides, esteroides, saponinas, taninos, quinonas, flavonoides, cumarinas, glicósidos cianogénicos, glucósidos cardiotónicos y alcaloides (Tabla 1). Mientras que la especie de *C. diffusus*, presentó: Triterpenos, saponinas, flavonoides, cumarinas, glicósidos cianogénicos, glucósidos cardiotónicos y alcaloides. En la especie *C. luzulae*, se observó presencia de Triterpenos, esteroides (en la prueba de Rosenhaim no reaccionó para esteroides), taninos, glicósidos cianogénicos, glucósidos cardiotónicos y alcaloides.

En el ensayo fitoquímico se presentan reacciones como la de Liebermann-Burchard que es típica de los triterpenos y esteroides que

contienen dos dobles enlaces conjugados en un mismo anillo, en dos anillos adyacentes o en un doble enlace en un anillo adyacente a un grupo hidroxilo; esta reacción debe realizarse en un medio absolutamente anhidro, ya que, al existir moléculas de agua, estas reaccionan con el anhídrido acético, anulando la formación de un agente oxidante, muy necesario para la efectividad del ensayo (Miranda M. 2001).

La reacción de quinonas produce una coloración rojo oscuro cuando el hidróxido de sodio reacciona con uno de los grupos hidroxilo, tanto de las antraquinonas como de las naftoquinonas ya que la coloración depende de la cantidad de electrones deslocalizados en movimiento (Ganoza M. 2000).

Los flavonoides se identifican mediante la reacción de Shinoda (Mg/HCl), donde el Mg^0 es oxidado por el HCl concentrado, dando como productos el H_2 , que es eliminado en forma de gas y el $MgCl_2$, el cual forma el complejo con los flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo

carbonilo de dos flavonas, produciendo una coloración roja (Villar Del Fresno A.1999).

Las reacciones de alcaloides con reactivos generales, se encuentran dentro del grupo de las reacciones de precipitación; éstas se basan en un intercambio del anión voluminoso del reactivo en acción, que reemplaza a los aniones pequeños de las sales de los alcaloides.

Los alcaloides poseen grupos amino, que les confiere propiedades alcalinas y al ser llevados a un medio ácido, se protonan e interaccionan electrostáticamente con los aniones voluminosos. En la reacción de Dragendorff se producen precipitados coloreados de sales de alcaloides; el bismuto (Bi) presenta una geometría octaédrica y una carga formal de -2 , en su esfera de coordinación (anión voluminoso) para interactuar electrostáticamente con dos moléculas de alcaloide protonadas. La reacción de Mayer presenta como metal de coordinación al mercurio (Hg^{2+}), el cual forma una coordinación tetraédrica, con una carga formal en su esfera de -2 ; interactuando de manera semejante al reactivo

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar de los extractos metanólicos de los rizomas de *C. luzulae*, *C. diffusus*, *C. odoratus*.

Metabolito	Prueba	<i>C. Luzulae</i> MeOH	<i>C. Odoratus</i> MeOH	<i>C. diffusus</i> MeOH
Triterpenos		+	+	+
Esteroles	Liberman-Burchard	+	+	-
	Rosenhaim	-	+	-
	Rosenthaler	+	+	+
Saponinas	Gelatina	-	+	-
	Agua caliente	-	+	+
Taninos	Cloruro ferrico	+	+	-
Quinonas		-	+	-
Flavonoides	Vapores de amoníaco	-	+	+
	Shinoda	-	+	+
	Pew's	-	+	+
Cumarinas		-	+	+
Glicosidos Cianogenicos		+	+	+
Glucosidos Cardiotonicos		+	+	+
Alcaloides	Dragendorff	-	+	+
	Mayer	-	+	+
	Hager	-	+	+

(+) Presencia del metabolito, (-) Ausencia del metabolito.

anterior (Villar Del Fresno A. 1999).

Determinación del contenido fenólico y de la Capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de los rizomas de las tres especies del género Cyperus.

Se evaluó el contenido de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante mediante las metodologías de DPPH, ABTS y FRAP de los extractos metanólicos

de los rizomas de las plantas de *C. luzulae*, *C. diffusus* y *C. odoratus*. Los resultados se expresaron en mg ácido gálico/g muestra seca, μmol Trolox/g muestra seca, μmol ácido ascórbico/g muestra seca, respectivamente (Tabla 2)

Los resultados obtenidos muestran que el contenido de compuestos fenólicos de la especie *C. odoratus* ($426,1 \pm 0,9$ mg ácido gálico/g muestra

Tabla 2. Resultado de fenoles totales, DPPH, FRAP y ABTS de la muestras evaluadas

Muestra	FENOLES TOTALES [mg Ácido gálico/ g muestra seca]	DPPH [μmol Trolox/ g muestra seca]	FRAP [μmol Ácido ascórbico/ g muestra seca]	ABTS [μmol Trolox/ g muestra seca]
<i>C. luzulae</i>	$131,5 \pm 2,4$	$418,6 \pm 14,2$	$702,9 \pm 36,4$	$861,1 \pm 6,2$
<i>C. diffusus</i>	$276,2 \pm 4,4$	$720,1 \pm 29,3$	$1028,4 \pm 78,3$	$1291,1 \pm 3,7$
<i>C. odoratus</i>	$426,1 \pm 0,9$	$780,3 \pm 6,0$	$1766,1 \pm 10,4$	$1552,8 \pm 5,6$

Los valores se reportan como la media \pm SD. (n=4). (P=0,05)

seca), es mayor al encontrado en las otras especies *C. diffusus* ($276,2 \pm 4,4$ mg ácido gálico/g muestra seca) y *C. luzulae* ($131,5 \pm 2,4$ mg ácido gálico/g muestra seca); este alto contenido de fenoles totales se puede relacionar con lo observado en la marcha fitoquímica, donde se evidencia la presencia de metabolitos secundarios con estructuras características de compuestos fenólicos como taninos, quinonas, flavonoides y cumarinas en el extracto metanólico de *C. odoratus*. Comparado los resultados con otro estudio realizado en la especie *C. rotundus* donde se evaluó el contenido de fenoles totales ($78,55 \pm 4,24$ mg ácido gálico/g muestra) (Amin & Razieh 2007) muestra que la especie *C. odoratus* presenta mayor concentración de este tipo de compuestos; sin embargo, los valores están por debajo de los encontrados en los rizomas de la especie *Fragaria chiloensis* ssp *chiloensis* ($1450 \pm 0,02$ mg ácido gálico/g muestra) (Simirgiotis & Schmeda-Hirschmann 2010).

Adicionalmente, la actividad antioxidante mostrada por *C. odoratus*, en cuanto a la capacidad de atrapar radicales libres DPPH es de $780,3 \pm 6,0$ μmol Trolox/g muestra seca; 1,86 veces por encima de la encontrada en *C. luzulae* y 1,08 veces mayor que la especie *C. diffusus*. De igual forma en la evaluación de la capacidad reductora FRAP, la especie *C. odoratus* presentó la mejor capacidad reductora ($1766,0 \pm 10,4$ μmol ácido ascórbico/g

muestra seca), 2,5 veces mayor que la especie *C. luzulae* y 1,7 veces superior que la especie *C. diffusus*. De tal manera que los extractos metanólicos de las especies estudiadas del género *Cyperus*, poseen una alta capacidad reductora por lo cual pueden tener un gran potencial para ser aplicado en diferentes sucesos biológicos como fuente de antioxidantes.

Los valores TEAC por la metodología ABTS son muy altos, sin embargo, es una técnica que no permite discriminar la naturaleza de los compuestos antioxidantes presentes en el extracto, esto se debe a la facilidad del radical ABTS^+ de reaccionar con sustancias reductoras mediante un mecanismo SET y/o HAT. La capacidad atrapadora del radical libre ABTS^+ de la especie *C. odoratus*, es $1552,8 \pm 5,6$ μmol Trolox/g de muestra seca; 1,8 veces mayor que la especie *C. luzulae* y 1,2 veces por encima que la especie *C. diffusus*.

Se cree que los compuestos fenólicos representan una parte importante de la actividad antioxidante en muchas plantas. La correlación entre la concentración fenólica y la actividad antioxidante ha sido ampliamente estudiada en productos alimenticios, como en frutas y vegetales (Javanmardi, J. et al 2003), demostrando una correlación lineal entre estas variables (Kaur, C. & Kapoor, H. C. 2000). En este trabajo se realizó la correlación entre el contenido de fenoles totales

de los extractos metanólicos de las tres especies *Cyperus* Vs la actividad antioxidante expresada en términos de ABTS y FRAP ($R=0.96$, $r^2=92\%$; $R=0.99$, $r^2=99\%$) respectivamente, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables; al igual que la correlación entre las diferentes variables antioxidantes ABTS VS FRAP y DPPH ($R=0.93$, $r^2=87\%$; $R=0.97$, $r^2=94\%$) (Figura 1).

Esto indica que los extractos de las plantas evaluadas presentan actividades comparables en los diferentes ensayos. Estos resultados son acordes con los encontrados en diferentes

estudios donde reportan la relación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante (Sreeramulu, D. & Raghunath 2010), (Kumar *et al* 2010), (Beserra *et al* 2011), (Babbar *et al* 2011), (Arcan & Yemenicioglu 2009).

Es importante destacar el potencial antioxidante de las especies del género *Cyperus*, que pese a ser reconocidas como malezas en diferentes cultivos, son promisorias como fuentes alternativas de antioxidantes naturales. En cuanto a importancia biológica se resalta la especie *C. odoratus*, la cual presentó la mayor actividad antioxidante

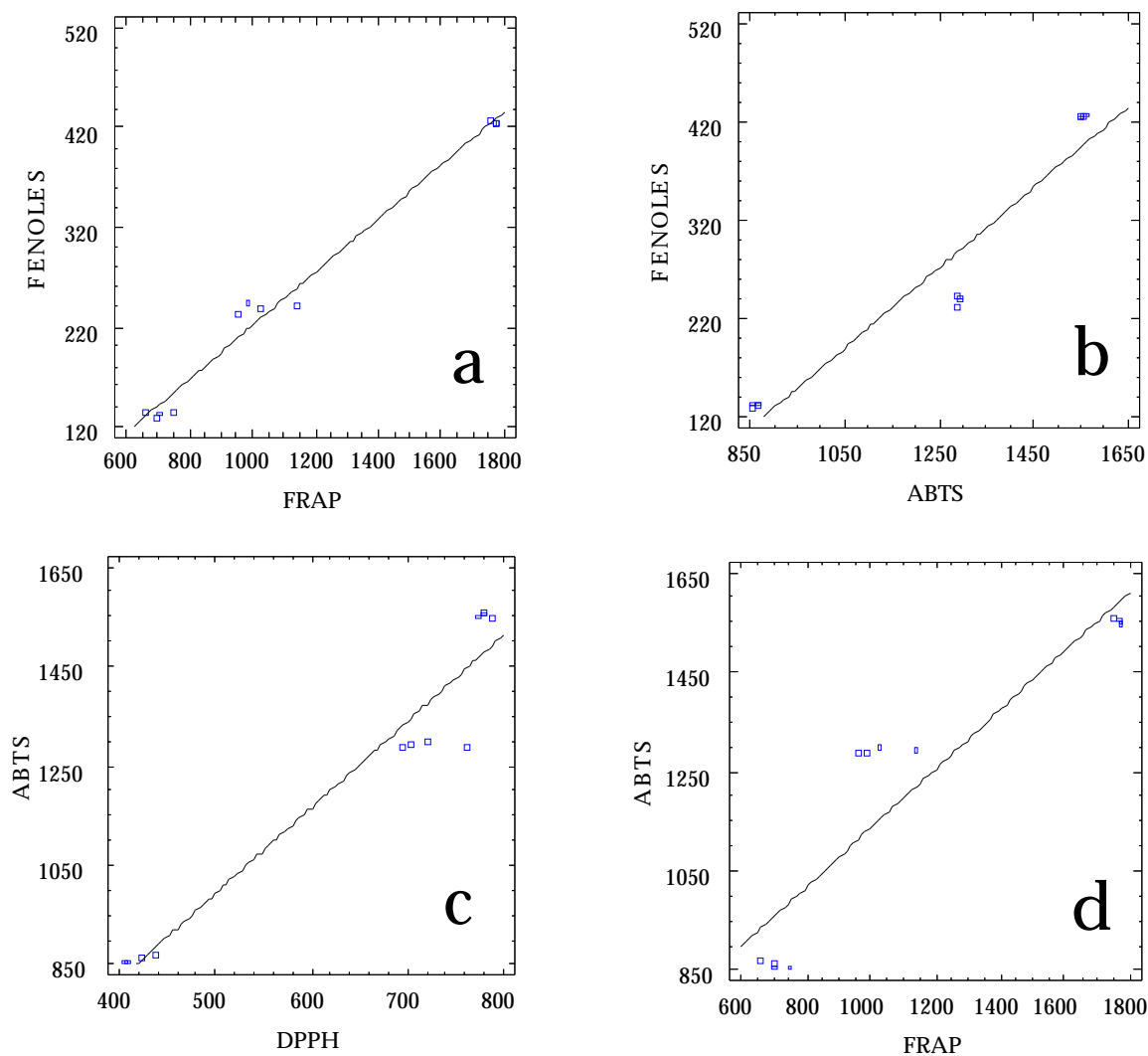


Figura 1. Correlaciones entre las variables antioxidantes. a) Fenoles totales Vs FRAP. b) Fenoles totales Vs ABTS. c) ABTS Vs DPPH. d) ABTS Vs FRAP.

comparada con *C. luzulae* y *C. diffusus*, lo que se asocia con la alta concentración de compuestos fenólicos y a la presencia de metabolitos secundarios con estructuras fenólicas.

Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados de la Universidad de la Amazonia, por la financiación del proyecto.

Literatura citada

- Aizpuru, I. C. Aseginolaza, P. Catalán & P.M. Uribe-Echebarría. 1993. Catálogo florístico de Navarra. Informe técnico. Dpto. de Medio Ambiente, Gobierno de Navarra. Pamplona.
- Albert, de E. 1982. El herbario de la Universidad de Antioquia. Actualidades biológicas 11: 51-57.
- Arcan, I. & Yemenicioglu, A. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. Journal of Food Composition and Analysis. 22: 184-188.
- Amin, A. & Razieh, Y. 2007. *Cyperus rotundus* suppresses AGE formation and protein oxidation in a model of fructose-mediated protein glycoxidation. International Journal of Biological Macromolecules. 41: 572-578.
- Babbar, N. Singh, H. Singh, D. Tumadu, R. 2011. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. Food Research International. 44: 391-396.
- Benzie, I. F. F. Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem. 239: 70-76.
- Beserra, M. M. Machado, P. Campos, A. M. Matias, G. Carvalho, G. Arraes, M. G. Gomes, T. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International. 44: 2155-215.
- Brand-Williams, W. Cuvelier, M. E. Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-Wiss U Technol. 28: 25-30.
- Carretero, J. L. 2004. Flora arvense española. Las malas hierbas de los cultivos españoles. Phytoma. Valencia.
- Devesa, J. A. 1997. Plantas con semillas in Izco *et al*, Botánica. Editorial Reverté. Barcelona: 379-580.
- Ganoza, M. 2000. Fundamentación química de las reacciones de coloración y precipitación en la identificación de metabolitos secundarios de plantas medicinales. Trujillo-Perú.
- Holm, L. G. Plucknett, D. L. Pancho, J. V. Herberger, J. P. 1977. The world's worst weeds, distribution and biology. East-West Center, University Press of Hawaii, Honolulu. : 609.
- Javanmardi, J. Stushnoff, L. Locke, E. Vivanco, J. M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry. 83: 547- 550.
- Kilani-Jaziri, W. Bhouiri, I. Skandrani, I. Limem, L. Chekir-Ghedira, K. Ghedira. 2010. Phytochemical, antimicrobial, antioxidant and antigenotoxic potentials of *Cyperus rotundus* extracts. [South African Journal of Botany](#). 77: 767-776.
- Kilani-Jaziri, S. Neffati, A. Limem, I. Boubaker, J. Skandrani, I. Ben-Sghair, M. Boughel, I. Bhouiri, W. Mariotted, A. M. Ghedir, K. Dijoux-Francac, M. G. Chekir-Ghedira, L. 2009. Relationship correlation of antioxidant and antiproliferative capacity of *Cyperus rotundus* products towards K562 erythroleukemia cells. Chemico-Biological Interactions. 181: 85-94.
- Kohen, R. Nyska, A. 2003. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic Pathology. 30(6): 620-650.
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ª ed. Ed. Ediciones Omega S.A. España.: 1-4.
- Kumar, C. Sreeramulu, D. Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity of fresh and dry fruits Commonly consumed in India. Food Research International. 43: 285-288.
- Mesa-Vanegas, A. M. Gaviria, C. Cardona, F. Sáez-Vega, J. A. Trujillo, B. Rojano, B. A. 2010. Antioxidant activity and total phenols content from some species of *Calophyllum* genus. Rev Cubana Plant Med v.15 n.2: 13-26.
- Mesmin, M. S. Wilfried, A. K. 2001. Chemical study of the essential oil of *Cyperus rotundus*. Phytochemistry .58: 799-810.
- Miranda, M. 2001. Farmacognosia y Productos naturales. 1ª ed. Ed. Félix Varela. Cuba. : 141, 207.
- Noldin, V. F. Isaias, D. B. Cechinel-Filho, V. C. 2006. *Calophyllum* Genus: Chemical and pharmacological importance. Quim Nova. 29(3): 549-54.
- Pezzuto, J. M. 1997. Plant -Derived Anticancer Agents. Biochemical, Pharmacology. 53: 121- 133.
- Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. Rice, E. C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 26:1231-1237.
- Sanabria, G. A. 1983. Análisis fitoquímico preliminar, metodología y sus aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae, Bogotá D. E. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia.
- Simirgiotis, M.J. & Schmeda-Hirschmann, G. 2010. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *Chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD-ESI-MS and free radical quenching techniques. Journal of Food Composition and Analysis 23: 545-553.
- Sreeramulu, D. Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. Food Research International. 43: 1017-1020.
- Singleton, V.L. Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 16: 144-158.
- Villar-Del Fresno, A. 1999. Farmacognosia General. 1ª ed. Ed. Síntesis. España.: 136-267.
- Won-Gil, S. Hyun-Ock, P. Gi-Su, O. Kyu-Yun, C. Tae-Oh, K. Young, G. Y. Na-Young, Kim. Hun, T. C. 2001. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. Journal of Ethnopharmacology. 76: 59-64.